3.

RICERCHE CHIMICHE

SUL

VELENO DELLA VIPERA.

PEL

PRINCIPE LUIGI-LUCIANO BONAPARTE.

LETTE IN OCCASIONE

DELLA QUINTA UNIONE DEGLI SCIENZIATI ITALIANI,

TENUTA IN LUCCA L'ANNO 1843.

RICERCHE CHIMICHE SUL VELENO DELLA VIPERA.

Coluber Berus di Linneo, secondo Cuvier	*Règne anim. 2. édit.*
Vipera Berus di Cuvier	*Règne anim. 2. édit.*
Vipera aspis di Carlo L. Bonaparte	*Fauna italica, T. 2.*

LETTE IN OCCASIONE DELLA QUINTA UNIONE DEGLI SCIENZIATI ITALIANI IN LUCCA.

Le proprietà fisiche e chimiche assegnate dal Fontana al velen viperino, benchè vengano generalmente confermate da ulteriori sperimenti, sono ben lungi dal darne un' idea della natura chimica di quest' umore.

Secondo questo illustre fisiologo il velen della vipera non è acido, non alcalino, non contien sali, non gode di sapore determinato, nè messo in sulla lingua vi eccita infiammazione. Il suo colore è più o meno tendente al giallo ed il suo odore pressochè nullo. Cade in fondo all' acqua nella quale conserva per alcun tempo la sua viscosità, quindi vi si discioglie. Sottomesso all' azione del calorico non si fonde, ma si gonfia e ribolle. Messo in contatto della fiamma non si accende, e gettato in sur un carbone rovente non prende fuoco che allorchè si carbonizza, come avviene alle sostanze organiche in generale. Fatto disseccare in un vetro da oriuolo si presenta sotto l' aspetto di una massa gommosa piena di fessure reticolari. Allo stato liquido si unisce più o meno bene agli acidi. Allo stato secco si discioglie nell' acqua, ma è insolubile negli acidi solforico e cloridrico, ne' quali non fa che dividersi un poco prendendo una consistenza di pasta liquida. L' acido azotico si comporta nello stesso modo, se non che il rende ancora più giallo. Gli acidi vegetabili, gli alcali, l' olio, gli olj essenziali e la soluzione di solfuro alcalino non lo

disciolgono. L' acqua bollente non coagula il veleno puro, ma lo scioglie prontamente conservando la sua trasparenza. L' alcool concentrato nol discioglie, ma lo spirito di vino debole vi esercita una leggiera azione solvente. La soluzione acquosa del veleno della vipera è precipitata dall' alcool sotto l' aspetto di una polvere bianca, la quale nel disseccarsi si screpola riempiendosi delle solite fessure reticolari. L' acido solforico messo in contatto col veleno precipitato dall' alcool e disseccato assume in capo a qualche tempo un coloramento vinoso oscuro. Cinquanta gocce di acido azotico riscaldato in un matraccio con sei grani di veleno secco danno dell' acido carbonico e dell' azoto senza apparenza d' acido ipoazotico, il quale, attesa la sua piccola quantità per la poca materia messa in opera, trova nell' aria contenuta nel matraccio causa sufficiente di decomposizione.

Il veleno di vipera mescolato in un bicchiere col sangue di alcuni animali a sangue caldo lo annera e ne impedisce la coagulazione. Il sangue di piccione, di gallina e di porcellino d' India mescolato con questo veleno viene infatti annerato, e perde la proprietà di coagularsi. Il sangue di vipera o di rana mescolato col veleno ne viene parimenti annerato perdendo la proprietà di coagularsi, proprietà, che a dir vero, è poco marcata anche nel sangue naturale di questi due anfibj, e soprattutto in quel di vipera. Nel sangue di porcellino d' India mescolato col veleno ed esaminato qualche tempo dopo non si scorge siero galleggiante. In quel di rana ed in quel di vipera il siero è molto. Dal sangue di rana non mescolato col veleno si separa ugualmente il siero, ma più lentamente. Da quel di vipera non mescolato col veleno non si separa mai siero. Questo veleno mescolato con l' ammoniaca uccide i piccioni, ma perde le sue proprietà venefiche allorchè viene unito alla potassa caustica.

Ecco quanto il celebre Fontana ne insegna in sul velen viperino, e non essendomi prefisso di tener parola che della sua natura, ho creduto dover citare succintamente i soli fatti avverati dall' illustre fisiologo che interessano maggiormente lo studio chimico di questa sostanza. Dico i soli fatti, poichè non prenderò a discutere le vedute teoriche dell' Autore, che fondate in sulla chimica di quel tempo non possono più soddisfare oggigiorno i cultori di questa altissima scienza.

Così, allorchè Fontana ci dice che il velen della vipera è una gomma animale che si comporta co' varj reagenti come la gomma arabica, altro non vedrò in queste varie reazioni che una comunanza di alcune proprietà con l' arabina, e non dirò che il velen viperino consti di gomma arabica, o contenga arabina come il suo principio più abbondante, se non mi sarà dato rinvenire in questo veleno molte altre proprietà chimiche della gomma arabica, proprietà scoperte dopo la morte di Fontana.

I varj sperimenti da me istituiti sopra quest' umore venefico non sono a dir vero tali da renderne lo studio chimico completo, ma quali essi pur siensi credo che non sarà discaro a sì illustre consesso il conoscergli, stante che tal subbietto non venne da lunga pezza chimicamente trattato, e sì anche perchè alla comune degli uomini, benchè dati alle scienze, ripugna il maneggiar siffatta spezie di rettili.

Prima di descriver le proprietà da me rinvenute nel veleno di vipera, credo dover far conoscer a' miei dotti ascoltatori che ho ripetuto le sperienze tutte del Fontana, e che le ho riscontrate generalmente esatte, come era facile il prevederlo. Solamente avvertirò, che ciò che dice il Fontana circa al non contenersi sali in questo veleno si debba intendere di sali sospesi, avendo eziandio riguardo al senso della parola sale al tempo in cui scriveva l' Autore. Di vero il velen viperino sottomesso in un cucchiaio di platino all' azion del calor rovente si carbonizza dapprima, quindi incenerisce lasciando alcuni sali, come si vedrà in appresso.

Sperimenti non ancor tentati in sul veleno di vipera.

Le mie prime ricerche hanno avuto per iscopo il riconoscere se il veleno di vipera sia essenzialmente costituito di un solo principio immediato, oppure se con mezzi chimici sia dato isolarne i varj componenti.

Dietro le sperienze da me istituite, credo potere asserire che il velen di vipera ben trasparente, quale si ottiene in un vetro da oriuolo, sottomesso al morso spontaneo di un individuo sano, robusto e da molto tempo digiuno, sia essenzialmente costituito di un principio venefico particolare, pel quale propongo il nome di *echidnina* dal Greco ἔχιδνα *echidna* vipera, oppur quello di *viperina*. Gli altri principj che accompagnano l' echidnina sono : una materia colorante gialla, una sostanza solubile in alcool, dell' albumina o muco, una materia grassa e de' sali consistenti per lo più in fosfati o in cloruri. La sola echidnina gode di proprietà venefiche, e la sua energia tossica è pressochè uguale a quella del velen di vipera naturale, che può venir riguardato come echidnina leggermente impura, nella stessa guisa che la manna di commercio di prima qualità e la gomma del Senegal possono ritenersi per mannite o per arabina lievemente contaminate da sostanze estranee non essenziali alla loro costituzione, sebben si trovin naturalmente le une alle altre in modo costante associate.

Ho rinvenuto costantemente nel velen di vipera la materia gialla, quella solubile in alcool ed i sali fissi, ma sempre in pic-

cola quantità e qualche volta talmente minima da riconoscerne con difficoltà la presenza. L' albumina o il muco e la materia grassa per lo contrario non si rinvengon sempre in questo veleno.

Stante il piccolo numero di vipere che ho potuto procurarmi, i miei sperimenti non hanno avuto luogo che sopra quantità piccolissime di materia, di modo tale che ad eccezione del principio essenziale ed importante del veleno, l' *echidnina*, non ho potuto dell' altre sostanze che l' accompagnano se non che avverar l' esistenza e l' innocuità in su i piccioni mediante l' inoculazione. Spero però in breve poter estendere le mie ricerche anche a questi meno importanti principj del velen viperino, come pure trattar più particolarmente delle reazioni che l' echidnina presenta co' molti reagenti che fornisce la chimica.

E per render persuasi i miei dotti ascoltatori della verità delle mie asserzioni passo a descrivere il metodo da me tenuto per la preparazione dell' echidnina, facendo in pari tempo conoscere le sue proprietà caratteristiche che la distinguono dalle altre sostanze organiche azotate. Spero fra non molto poter dare altresì l' analisi elementare di questa sostanza, che non ho ancora potuto ottenere in quantità sufficiente per questo lavoro. Sarà senza dubbio interessante il sapere se l' echidnina è isomera con la ptialina, con la pepsina, o con altre sostanze organiche azotate, neutre e facilmente putrescibili, con le quali presenta il più d' analogia per le sue proprietà chimiche.

Preparazione dell' echidnina.

Per ottenere l' echidnina pura si comincia dall' ammassare la maggior quantità possibile di velen viperino, presentando un vetro da oriuolo al rettile mordace, e comprimendo poscia quella parte del capo che corrisponde alle ghiandole velenifere. Si mesce il veleno liquido con molto alcool concentrato che il coagula, si raccoglie in su d' un filtro e si lava ripetute volte con alcool. I liquori alcoolici evaporati in presenza dell' acido solforico sotto il recipiente della macchina pneumatica, oppure sotto una campana la cui aria sia stata rarefatta, lasciano un piccolo residuo talora colorato leggermente in giallastro. Con questa prima operazione si toglie al veleno la materia solubile nell' alcool ed in pari tempo il suo color giallo che par dotato di pochissima solubilità. Si fa disseccare il filtro imbevuto d' alcool e racchiudente il veleno coagulato, quindi si ripone nell' imbuto, e vi si versa una piccola quantità d' acqua distillata che ridiscioglie il veleno formando una soluzione incolora che passa limpida attraverso il filtro. Si lava questo a più

riprese con acqua distillata, ma sempre adoperata in quantità di poche gocce. Il filtro pure e l' imbuto debbono essere di piccolissima dimensione. Queste precauzioni sono necessarie onde avere una soluzione di veleno non troppo allungata d' acqua. Si trovano talvolta in sul filtro alcuni fiocchi insolubili di muco o di albumina.

Il veleno in soluzione è posto in vetri da oriuolo ed evaporato sotto il recipiente della macchina pneumatica; vien quindi polverizzato e trattato con etere che discioglie alcune volte, sebben di rado, una traccia di materia grassa. Quest' ultimo trattamento con l' etere non è sempre necessario, ma è bene assicurarsi sopra una piccola quantità di veleno dell' assenza di ogni sostanza grassa. Il veleno dopo tutti questi trattamenti si può considerar come echidnina pura, semprechè bruciato in sur una lamina di platino non lasci un residuo di ceneri, nel qual caso è necessario sciogliersi in poca acqua distillata acidulata con acido acetico, precipitarlo di nuovo con l' alcool, lavarlo a più riprese con questo mestruo, quindi ridisciogliersi nell' acqua distillata, e farlo disseccare sotto il recipiente della macchina pneumatica in un vetro da oriuolo. Due trattamenti successivi con l' acqua acidulata e con l' alcool sono spesso sufficienti a privar l' echidnina de' sali che ostinatamente ritiene, soprattutto facendo uso di uno spirito di vino poco concentrato, benchè a dir vero in quest' ultimo caso si perda un poco d' echidnina che non è totalmente insolubile nell' alcool debole. Qualora i due trattamenti alcoolici e d' acqua acidulata non bastino a privar l' echidnina de' suoi sali, si debbe ripetere la soluzione nell' acqua acidulata, la precipitazione per l' alcool, i lavacri alcoolici e la disseccazione, così operando fino al punto che si abbia una sostanza che non lasci bruciando alcun residuo. Non è che in questo stato che considero l' echidnina come un principio immediato puro e distinto da tutte le altre sostanze organiche conosciute.

Proprietà della echidnina.

L' echidnina ottenuta col metodo testè descritto si presenta sotto l' aspetto d' una vernice gommosa incolora, lucida e trasparente, che si distacca dal vetro da oriuolo in cui venne disseccata in sottilissime scaglie brillanti non dissimili da quelle dell' acido tannico, sebben più bianche. Non ha nè odore, nè sapore determinato. Non arrossa la tintura di laccamuffa, non inverdisce il siroppo di viole, nè inazzurra la carta arrossata di quella prima sostanza. Sottomessa in un cucchiaio di platino all' azion del calorico dopo d' averla mescolata con un poco di

potassa, lascia sviluppare dell' ammoniaca. Disciolta in una soluzione di potassa caustica si ha un liquido che si colora in un bel violetto con l' idrato di biossido di rame, fenomeno presentato pur anche dall' albumina, dalla gelatina e da altre sostanze azotate analoghe.

L' echidnina è solubilissima nell' acqua fredda e l' acqua bollente non la coagula. La sua soluzione acquosa sottomessa in istrati sottili all' evaporazione spontanea si dissecca in una vernice incolora e trasparente ripiena di fessure più piccole di quelle fornite dal veleno naturale di vipera. Questa soluzione s' intorba per l' aggiunta dell' alcool ed il precipitato si ridiscioglie nell' acqua. Il solfato di sesquiossido di ferro la precipita talora subito e talora dopo alcune ore. L' acetato di piombo non altera la sua trasparenza.

L' echidnina messa in contatto ad un leggiero calore con l' acido azotico vi si è disciolta, ed il liquido pel raffreddamento non ha fornito acido mucico. Ripetuto questo sperimento con una quantità piccolissima di gomma arabica, si è ottenuto di quest' acido, sebben pochissimo e non senza difficoltà, stante la piccolissima quantità di materia messa in opera. Questo sperimento non sarà dunque veramente decisivo, se non quando verrà ripetuto con una sufficiente quantità di echidnina messa al confronto della gomma arabica ed a parità di condizioni. Tutto però indica che l' echidnina non gode in effetto della proprietà di fornire acido mucico, sia che si accordi un qualche peso allo sperimento da me fatto con pochissima materia di confronto alla gomma arabica, sia che si prenda in considerazione la composizione dell' echidnina, la quale contiene azoto come parte costituente.

Nessuna gomma, come si sa da' chimici, checchè ne dica Raspail in appoggio di sue stranissime idee, racchiude azoto come principio costituente essenziale, essendone l' arabina, la cerasina, e la bassorina interamente sfornite. Non si può dunque in verun modo considerar l' echidnina come una gomma, fosse pur essa dotata della proprietà di fornire acido mucico, proprietà la quale a mio credere, è molto meno caratteristica della gomma di quello che sia la presenza dell' azoto, carattere indicante tutt' altro genere di sostanza. Di vero non s' ignora da' chimici essere la lattosa capace di fornire acido mucico, mentre che niuna sostanza essenzialmente azotata si osò mettere fino ad ora nel novero delle gomme.

L' echidnina si comporta co' varj sangui esattamente come il veleno naturale di vipera. Spesse volte i piccioni a' quali s' inocula l' echidnina non muoiono, il che accade pur anche col veleno naturale di vipera, sia che l' inoculazione il mezzo più acconcio non sia onde farlo assorbire, sia che troppo piccola

quantità di veleno si possa introdurre nel solco angusto dell' ago inoculatorio.

Ho mescolato l' echidnina ed il veleno naturale di vipera al sangue umano, e vi hanno agito come in sugli altri sangui de' vertebrati a sangue caldo, cioè rendendone fosco il colore ed impedendone la coagulazione. Il modo di comportarsi dell' echidnina o del veleno della vipera col sangue fa abbastanza distinguerlo dalla gomma arabica. Ne differisce inoltre particolarmente. 1. perchè contiene azoto; 2. perchè fornisce un liquido violetto mescolandola all' idrato di bi-ossido di rame e alla soluzion di potassa; 3. per gli prodotti infetti della sua putrefazione identici o analoghi a quelli forniti dalla proteina e sostanze simili.

Differisce inoltre l' echidnina dalle seguenti sostanze azotate sue analoghe, proteina, fibrina, albumina, vitellina, legumina, glutina, caseina, gelatina, condrina, spermatina e muco per essere tutti questi corpi insolubili o pochissimo solubili nell' acqua fredda, o sì vero perchè tali divengono per l' effetto della coagulazione mediante il calore dell' acqua bollente, o per l' azione dell' alcool concentrato, o per la semplice evaporazione a secchezza.

La stessa piina, principio ricavato dal pus, una volta disseccata non si discioglie più completamente nell' acqua. La pepsina e la ptialina poi, sostanze solubili nell' acqua fredda come la echidnina, anche dopo di aver subito il trattamento alcoolico, si distinguono dall' echidnina, la prima per esser precipitata dall' acetato di piombo, l' altra perchè non intorba la soluzione di solfato di sesquiossido di ferro.

Pare dunque che dal sin qui esposto risulti, che la sostanza la più rassomigliante all' echidnina sia la ptialina, principio rinvenuto nella saliva dell' uomo e di altri mammiferi; nè ciò debbe far maraviglia allorchè si rifletta che il veleno della vipera secretato da un organo al tutto analogo alla nostra ghiandola parotide, altro non è al dire dell' illustre zoologo *De Blainville* che una vera saliva di questo rettile. (Cours de phys. gén. et comp. t. 3, p. 124.)

Forse che più particolarmente studiando le varie reazioni della echidnina in sulle molte soluzioni metalliche di che è ricca al presente la chimica, rinvenir potre' io altri criterj in conferma della diversità che passa fra la echidnina e la ptialina?

Forse che mediante queste medesime reazioni potre' io un giorno persuadermi che la sostanza da me chiamata echidnina, altro non sia che ptialina unita alla vera echidnina principio in questa ultima ipotesi eminentemente venefico?

Ma per risolver tai dubbj attenderò di avere in abbondanza il velen viperino, ed il campo abbandonando delle congetture

onde starmene a' fatti, concludo, che l' echidnina quale da me è ottenuta, benchè non compiutamente esaminata, presenta i caratteri tutti di una sostanza pura, al punto che non crederei giusto qualunque rimprovero mi venisse fatto per averla chiamata con particolar denominazione, prendendo in ciò esemplo da chiarissimi chimici, senza escludere il massimo fra questi, il gran Berzelius, che battezzò col nome di cerio quel metallo, che ora miscuglio, o combinazione di cerio, di lantano e di didimio si appella.

Appendice.

Varie storie di guarigione d' idrofobia da me udite, benchè in modo vaghissimo narrate, mediante il velen viperino, m' indussero a pregare alcuni mesi sono il Sig. Commendator Betti, in occasione di discorso con Lui avuto sopra questo, a torto o a ragione preteso antidoto, di volermi rendere avvisato tosto che per disgraziata occasione un qualche idrofobo capitasse allo Spedale di S. Maria Nuova, del quale il Sig. Prof. Betti è Sopraintendente; e ciò onde sottometter l' idrofobo al morso di più vipere, o alla inoculazione della echidnina. Al che avendo annuito il chiarissimo Professore, memore della mia inchiesta, dopo essere stata sottomessa al consulto di molti rispettabili medici tal proposizione, mi rese avvisato pochi giorni sono con quella gentilezza che gli è propria, che essendo giunto allo spedale di S. Maria Nuova un idrofobo in età di circa 15. anni, morso da 53 giorni da un cane arrabbiato, il voto della pluralità de' medici, a' quali fu proposto il mezzo terapeutico del velen viperino, era stato per l' affermativa; e che in conseguenza di ciò avrebbe gradito che meco portassi le vipere non che la echidnina, onde così potessi ancor io assistere a varj sperimenti intrapresi sotto la direzion del Dott. Panattoni, medico curante dell' infermo; del che voglio rendergli pubbliche grazie, soprattutto per avere ammesso me, non medico, in quella rispettabile adunanza.

Essendosi proposto il Dott. Panattoni di riferire alla sezione di Medicina la storia particolarizzata di questa idrofobia, mi limi-

terò solamente a far noto, che fu spinto fino a sei consecutive il numero delle vipere applicate all' idrofobo, e cho le morsicature di tai rettili non diminuirono punto i sintomi dell' idrofobia; che i medesimi aumentarono anche dopo quest' applicazione, come se non fossero stato applicate, non manifestandosi nè i sintomi dell' avvelenamento della vipera, nè venendo modificati quelli dell' idrofobia. L' infelice giovinetto spirò in breve in mezzo a violentissime convulsioni.

LUIGI L. BONAPARTE.

(*Articolo estratto dalla Gazzetta Toscana delle scienze medico-fisiche. Anno primo. Firenze*, 1843.)